文章编号：1001-8689(2020)06-0627-05

2018年成都地区淋病奈瑟菌对抗生素耐药性的结果分析

罗才会　李春花　王有为　李雪茹　雍刚
(四川省医学科学院·四川省人民医院检验科，成都 610000)

摘要：目的　了解2018年成都地区淋病奈瑟菌对5种抗生素的耐药性及产β-内酰胺酶淋病奈瑟菌(PPNG)和质粒介导的高度耐四环素淋病奈瑟菌(TRNG)的流行状况。**方法**　用琼脂稀释法测定5种抗生素的最小抑菌浓度(MIC)和用纸片酸度法检测β-内酰胺酶。**结果**　112株淋病奈瑟菌检测出PPNG 58株(51.79%)、TRNG 31株(27.68%)，青霉素和阿奇霉素的耐药率分别为76.79%和25.00%，检测出淋病奈瑟菌对环丙沙星全部耐药，同时发现一株耐大观霉素的菌株，未发现有对头孢曲松耐药的菌株。淋病奈瑟菌多重耐药41株(36.61%)，其中对环丙沙星、青霉素和四环素同时耐药24株比例(21.43%)最高，对环丙沙星、青霉素、四环素、阿奇霉素和大观霉素同时耐药1株比例(0.89%)最低。**结论**　头孢曲松和大观霉素可作为成都地区治疗淋病的首选药物，同时持续监测淋病奈瑟菌对抗生素的耐药性十分重要。

关键词： 淋病奈瑟菌；抗生素；药物监测
中图分类号：R978.1　　**文献标志码：**A

Analysis of antibiotic resistanc of *Nersseria gonorrhoeae* isolates from Chengdu in 2018

Luo Cai-hui, Li Chun-hua, Wang You-wei, Li Xue-ru and Yong Gang
(Department of Clinical Laboratory, Sichuan Academy of Medical Sciences and Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610000)

Abstract　**Objective**　To investigate the antibiotic resistance of *Neisseria gonorrhoeae* (NG) to five antibiotics and the prevalence of penicillinase-producing NG (PPNG) and tetracycline-resistant NG (TRNG) in Chengdu. **Methods**　Minimum inhibitory concentrations (MIC) of five antibiotics were determined using the agar dilution method, and β-lactamase was analyzed by the paper acidimetric method. **Results**　A total of 112 NG isolates were examined. There were 58 PPNG (51.79%) and 31 TRNG (27.68%) demonstrated respectively. The resistant rates to penicillin and azithromycin were 76.79% and 25.00% respectively. All strains were found to be resistant to ciprofloxacin. One spectinomycin resistant strain was detected. No ceftriaxone resistant strains were found. Multidrug resistant rate was 36.61%(41/112). The resistant rate of 24 strains were high to ciprofloxacin, penicillin, and tetracycline at the same time, while the resistant rate of one strain was low to ciprofloxacin, penicillin, tetracycline, azithromycin, and spectinomycin at the same time. **Conclusion**　It is important to strengthen the NG surveillance of antimicrobial resistance, and ceftriaxone and spectinomycin are the first-choice drug for treatment of NG in Chengdu.

Key words　*Neisseria gonorrhoeae*; Antibiotics; Drug monitoring

淋病是由淋病奈瑟菌感染泌尿生殖系统引起的化脓性炎性疾病，是目前全球最常见的性传播疾病[1-4]。近年来，淋病发病率有所升高，2008年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)估计，全球每年新发淋病感染患者约为1.061亿，在全球细菌性传播感染疾病中排第2位[5-7]。中国疾病预防控制中心发布2017年中国淋病报告病例数为138855例，在我国甲乙类法定传染病报告发病数中位居第5位[8-9]。据报道淋病还可促进HIV的感染和传播，严重威胁着全球的公共卫生安全。由于抗生素的滥用及不规范使用等原

收稿日期：2019-05-08

作者简介：罗才会，女，生于1986年，主管技师，主要研究方向为艾滋病性病检测，E-mail: caihuiluo@163.com

因，淋病奈瑟菌对多种抗生素产生了耐药性，并逐年增加，加重了临床治疗淋病的难度，使淋病得不到有效的治疗，而引起严重的并发症，严重影响人们的生活质量。淋病奈瑟菌的感染情况及耐药性因时间、地区及人群的不同存在一定的差异，了解本地区淋病奈瑟菌的耐药情况及流行病学特点，为本地区淋病治疗方案的制定及预防控制措施的制订提供科学依据，现将2018年112株淋病奈瑟菌的耐药情况分析如下。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　菌株来源

112株淋病奈瑟菌来源于2018年四川省人民医院皮肤病性病研究所门诊患者的泌尿生殖道分泌物中分离得到，男性标本取自尿道口内3~4cm处，女性标本取自宫颈口内1~2cm处，接种于选择性培养基，所有菌株培养24~48h后经革兰染色、菌落形态、氧化酶及糖发酵试验鉴定，分纯后洗脱于肉汤中，-80℃冰箱冻存备用。

1.1.2　患者信息资料

确诊为淋病的患者按要求登记各项临床资料。

1.1.3　标准菌株

标准菌株WHO C、WHO G、WHO P、WHO K、WHO J均由中国疾病预防控制中心性病控制中心提供。

1.1.4　抗菌药物

青霉素、环丙沙星、大观霉素、头孢曲松、阿奇霉素和四环素6种抗生素药粉均由中国疾病预防控制中心性病控制中心提供。

1.1.5　药敏培养基

GC基础培养基加入2%血红蛋白粉和1%生长添加剂。

1.2　方法

1.2.1　菌株对抗生素敏感性的测定

采用WHO西太区淋病奈瑟菌耐药监测指南推荐的琼脂稀释法测定最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)[10]。将抗菌药物用适当的缓冲液溶解成原液，再对倍稀释成一系列浓度抗生素的培养基。试验菌株和标准菌株先在GC培养基上传代2次，用16~18h的新鲜菌落制成1.5×10^8CFU/mL的菌悬液，用多头点接种仪将试验菌株和标准菌株的菌悬液接种于各抗菌药物琼脂平板，置于35℃，5% CO_2培养箱中培养24h后观察结果，以淋球菌不生长的最低药物浓度为该药的MIC，并统计出抗菌药的MIC_{50}和MIC_{90}。每批次试验均由标准菌株作质控，按WHO推荐的标准判断药物敏感性[10]：青霉素：≤0.06mg/L为敏感，0.12~1mg/L为中度敏感，≥2mg/L为耐药；环丙沙星：≤0.06mg/L为敏感，0.12~0.5mg/L为中度敏感，≥1mg/L为耐药；大观霉素：≤32mg/L为敏感，64mg/L为中度敏感，≥128mg/L为耐药；阿奇霉素：≤0.25mg/L为敏感，0.5mg/L为中度敏感，≥1mg/L为耐药；头孢曲松：≤0.25 mg/L为敏感，暂时无耐药株标准。

1.2.2　PPNG测定

采用纸片酸度法。用接种环将菌落涂到含有青霉素液的滤纸上，35℃孵育30min后观察有无颜色变化，产生β-内酰胺酶的淋病奈瑟菌使滤纸颜色由紫变黄。

1.2.3　TRNG测定

采用琼脂稀释法，当四环素MIC≥16mg/L时判定为TRNG阳性株。

2　结果

2.1　MIC测定结果

如表1~2所示，112株淋病奈瑟菌中，青霉素耐药株86株(76.79%)，MIC范围0.125~8mg/L，MIC_{50}和MIC_{90}均超过耐药标准；112株淋病奈瑟菌对环丙沙星全部耐药(100%)，MIC范围2~16mg/L，MIC_{50}和MIC_{90}均远远超过耐药标准；阿奇霉素耐药株28株(25.00%)，MIC范围0.0312~4mg/L，MIC_{50}在敏感范围，但MIC_{90}超过耐药标准；发现大观霉素耐药株1株(0.89%)，敏感株111株(99.11%)，MIC范围4~128mg/L，MIC_{50}和MIC_{90}均在敏感范围；未发现耐头孢曲松菌株，中敏株10株(8.93%)，敏感株102株(91.07%)，MIC范围0.0078~0.5mg/L，MIC_{50}和MIC_{90}均在敏感范围。

2.2　PPNG、TRNG测定结果

112株淋病奈瑟菌中检出58株菌株产β-内酰胺酶，占51.79%，31株质粒介导高度耐四环素淋病奈瑟菌，占27.68%。详见表2。

2.3　多重耐药性

表3所示，112株淋病奈瑟菌临床分离株中，多重耐药41株(36.61%)，其中对3种抗生素耐药中，对环丙沙星、青霉素和四环素同时耐药24株比例(21.43%)最高，对环丙沙星、四环素和阿奇霉素同时耐药12株比例(10.71%)最低，同时对4种抗生素(环丙沙星、青霉素、四环素和阿奇霉素)耐药的淋球菌9株(8.04%)，有1株(0.89%)淋球菌同时对5种抗生素(环丙沙星、青霉素、四环素、阿奇霉素和大观霉素)

表1 6种抗生素对112株淋病奈瑟菌的MIC分布/(mg/L)

Tab. 1 MIC distribution of six antibiotics to 112 NG isolates/(mg/L)

药物	淋球菌的MIC分布														
	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.0312	0.0156	0.0078
青霉素	0	0	0	0	59	7	20	22	3	0	1	0	0	0	0
四环素	-	-	-	31	81	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
环丙沙星	0	0	0	92	12	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0
阿奇霉素	0	0	0	0	0	6	10	12	48	18	12	3	3	0	0
大观霉素	1	0	5	98	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
头孢曲松	0	0	0	0	0	0	0	0	10	1	9	29	30	22	11

注：“-”代表未检出

表2 6种抗生素对112株淋病奈瑟菌的抗菌活性

Tab. 2 Antimicrobials activity of six antibiotics to 112 NG isolates

药物	敏感株/(*n*, %)	中敏株/(*n*, %)	耐药株/(*n*, %)	MIC_{50}/(mg/L)	MIC_{90}/(mg/L)	MIC范围/(mg/L)	PPNG株/(*n*, %)	TRNG株/(*n*, %)
青霉素	0	26(23.21)	86(76.79)	4	8	0.125~8	58(51.79)	-
四环素	-	-	-	-	-	-	-	31(27.68)
环丙沙星	0	0	112(100)	16	16	2-16	-	-
阿奇霉素	36(32.14)	48(42.86)	28(25.00)	0.5	2	0.0312-4	-	-
大观霉素	111(99.11)	0	1(0.89)	16	16	4-128	-	-
头孢曲松	102(91.07)	10(8.93)	0	0.025	0.125	0.0078-0.5	-	-

注：“-”代表未检出

表3 112株淋病奈瑟菌的多重耐药[株(%)]

Tab. 3 Multidrug resistance to 112 NG isolates [*n*(%)]

耐药种类	耐药率
环丙沙星+青霉素+四环素	24(21.43)
环丙沙星+青霉素+阿奇霉素	23(20.54)
环丙沙星+四环素+阿奇霉素	12(10.71)
环丙沙星+青霉素+四环素+阿奇霉素	9(8.04)
环丙沙星+青霉素+四环素+阿奇霉素+大观霉素	1(0.89)
多重耐药	41(36.61)

耐药。

2.4 患者信息资料

112例患者中，以异性恋男性患者为主，男女患者比为10.2:1，均为汉族，年龄分布主要集中在21~50岁92例(82.14%)，18~20岁和51~70岁年龄段分别7例(6.25%)和13例(11.61%)，感染来源地主要集中在本省(97.32%)，大部分患者主诉无淋病病史(91.96%)，泌尿生殖道有异常分泌物(100%)，多数患者的病程在3~7d(84.82%)，有31例患者在1个月内使用过抗菌药。

3 讨论

淋病奈瑟菌对抗生素的耐药性持续增加，对全球淋病的防治构成巨大的威胁，特别令人担忧是在日本、法国和西班牙发现了对头孢曲松高度耐药的淋病奈瑟菌，即“超级淋病奈瑟菌”[11-13]，甚至还出现了临床治疗失败的病例[11-12,14-16]，使得淋病成为难以治疗的疾病。

在2018年成都地区淋病奈瑟菌耐药监测中，对青霉素的耐药率和PPNG、TRNG检出率分别为76.79%、51.79%和27.68%，青霉素的MIC_{50}和MIC_{90}均已超过耐药标准。112株淋病奈瑟菌对环丙沙星全部耐药，MIC_{50}和MIC_{90}也均远远超过耐药标准。环丙沙星高耐药率(100%)及高水平耐药(MIC≥16mg/L)与国内其他一些地区如广州[17-18]、扬州[19]、广西部分地区[20]、珠海[21]和江门[22]的报道一致。阿奇霉素是大环内酯类抗菌药物，曾被推荐作为临床治疗淋病的一线药物，但是该类药物又被广泛地用于呼吸道及肠道感染、沙眼衣原体及支原体感染，随着其在临床上的广泛使用，导致淋病奈瑟菌对阿奇霉素的敏感性降低而耐药性逐渐增加[23-24]。2018年本地区淋病奈瑟菌对阿奇霉素的耐药率为25%，MIC_{50}在中敏范围，但MIC_{90}超过耐药标准。

目前头孢曲松是全球大多数国家和地区治疗淋病的首选推荐药物，令人欣慰的是本地区尚未发现有淋病奈瑟菌对头孢曲松耐药，MIC_{50}和MIC_{90}也均在敏感范围，中敏率为8.93%，低于全国平均水平，可能与多年来本地区相关部门对淋病奈瑟菌耐药性

监测的重视，根据耐药监测结果及时指导临床规范、足量用药有关。但是在中国海南、广西、济宁地区检测出耐头孢曲松的菌株[25-27]，因此持续监测淋病奈瑟菌对头孢曲松的敏感性，及时发现耐药菌株的情况，防止耐头孢曲松菌株的暴发流行。大观霉素是氨基糖苷类抗菌药物，作为治疗淋病的一线药物，其不良反应小，安全性好，特别可作为头孢曲松过敏患者的首选药物。在本次监测中，虽然大观霉素的MIC_{50}和MIC_{90}均在敏感范围，但是发现了1株淋球菌对大观霉素耐药，在中国其他地区也发现有耐大观霉素的菌株[28-31]，甚至还报道有临床治疗失败的病例[32]，由此应该对临床医生和相关部门敲响警钟，在临床上规范用药，加强对大观霉素的耐药监测，防止大观霉素耐药菌株的突然暴发流行。

对患者的信息统计分析发现，112例患者均为汉族，以异性恋男性患者为主，大部分患者主诉有异常分泌物，主要与男性患者就诊率远远高于女性有关，因为95%以上的男性感染者会有明显的排尿困难和尿道口流脓等症状，而女性感染者症状多不明显，同时可能与本门诊为性病门诊，大部分患者在有症状时来就诊有关。数据显示患者年龄主要集中在21~50岁(82.14%)，与其他报道淋病患者主要集中在中青年一致[33-34]。

根据WHO规定，当某种抗菌药物的耐药率大于5%时，该药不应作为首选药物，当耐药率高于10%时，应停止使用。因此，青霉素、环丙沙星和阿奇霉素已不适宜于成都地区治疗淋病，头孢曲松和大观霉素可作为本地区治疗淋病的一线药物。本地区要持续加强对淋病奈瑟菌耐药的监测，这样不仅能给临床医生治疗淋病用药提供建议和指导，同时可及时发现淋病奈瑟菌的耐药变化，以防止耐药株的暴发流行；而且对患者信息资料的收集分析，可了解本地区淋病奈瑟菌的传播特点，从而更有效的开展淋病奈瑟菌的防控工作，从源头降低淋病奈瑟菌的发病率和耐药率。

参考文献

[1] 张翠英, 李菊平, 杜志强. 实时荧光定量PCR法与培养法同时检测淋病奈瑟菌的临床应用[J]. 中国艾滋病性病, 2015, 21(4): 338.

[2] 周可, 陈绍椿, 尹跃平. 淋病奈瑟菌耐药外排泵研究进展[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2018, 34(17): 755-759.

[3] 胡跃强. 2008—2012年金华市淋病流行特征分析[J]. 中国艾滋病性病, 2015, 21(2): 161-163.

[4] Araneta C M P, Juayang A C, Lim J P T, *et al*. Antibiotic susceptibility monitoring of *Neisseria gonorrhoeae* in bacolod city, philippines[J]. *Trop Med Infect Dis*, 2017, 2(3), 45. doi: 10.9734/BMRJ/2015/19641.

[5] Ang G Y, Yu C Y, Yong D A, *et al*. Draft genome sequence of *Neisseria gonorrhoeae* strain NG_869 with penicillin, tetracycline and ciprofloxacin resistance determinants isolated from Malaysia[J]. *Indian J Microbiol*, 2016, 56(2): 225-227.

[6] Goire N, Speers D J, Lahra M M, *et al*. *Neisseria gonorrhoeae*: The pathogen, diagnosis, and antimicrobial resistane[M]. Human Emerging and Re-emerging Infections:Viral and Parasitic Infectons, 2015(1): 683-697.

[7] Bauer S, Helmreich J, Zachary M, *et al*. The sibling sRNAs NgncR_162 and NgncR_163 of *Neisseria gonorrhoeae* participate in the expression control of metabolic,transport and regulatory proteins[J]. *Microbiology*, 2017, 163(11): 1720-1734.

[8] 中国疾病预防控制中心. 2017年全国法定传染病疫情概况[R]. 2018-02-26.

[9] 苏晓红. 淋病治疗与头孢菌素耐药性[J]. 中国医学信息导报, 2015, 30(15): 15.

[10] World Health Organization. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus[S]. World Health Organization, 2013. www.who.int.

[11] Onishi M, Golparian D, Shimuta K, *et a1*. Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhea: Detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(7): 3538-3545.

[12] Unemo M, Golparian D, Nicholas R, *et a1*. High-level cefixime and ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in France: Novel penA mosaic allele in a successful international clone causes treatment failure[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(3): 1273-1280.

[13] Camara J, Serra J, Ayats J, *et al*. Molecular characterization of two high-level ceftriaxone-resistant Neisseria gonorrhoeae isolates detected in Catalonia, Spain[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2012, 67(8): 1858-1860.

[14] Ison C A, Hussey J, Sankar K N, *et al*. Gonorrhoea treatment failures to cefixime and azithromycin in England, 2010[J]. *Euro Surveill*, 2011, 16(4). pii: 19833.

[15] Unemo M, Golparian D, Hestner A. Ceftriaxone treatment failure of pharyngeal gonorrhoea verified by international recommendations, Sweden, July 2010[J]. *Euro Surveill*, 2011, 16(6). pii: 19792.

[16] Unemo M, Golparian D, Syversen G, *et al*. Two cases of verified clinical failures using internationally recommended first-line cefixime for gonorrhoea treatment, Norway, 2010[J]. *Euro Surveill*, 2010, 15(47): pii: 19721.

[17] 黎小东, 梁景耀, 毕超, 等. 广州地区淋球菌耐药性的趋势

分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(4): 472-477.
[18] 陈霄霄, 梁景耀, 曹文苓, 等. 广州淋球菌基因特征及其多抗原序列分型与环丙沙星耐药相关性研究[J]. 中国皮肤科杂志, 2016, 49(5): 353-356.
[19] 时祝帅, 王德霞, 聂青松. 2010—2015年扬州地区淋球菌耐药性和流行株质粒谱的研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2016, 41(12): 1681-1683.
[20] 张杰, 李伟, 朱邦勇, 等. 2008—2013年广西部分地区性病门诊患者淋球菌临床分离菌株的耐药监测[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2017, 31(2): 180-182.
[21] 刘小凤, 沈守星, 魏秋姣. 广东省珠海地区2010—2015年淋球菌耐药监测变化趋势分析[J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2016, 23(6): 389-392.
[22] 吴志周, 文美贞, 黄海花. 2010—2016年广东省江门市淋球菌耐药监测变化趋势分析[J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2018, 25(30): 153-155.
[23] 刘宏业, 韩燕, 陈绍椿, 等. 淋病奈瑟菌对头孢菌素和阿奇霉素耐药性的研究进展[J]. 国际皮肤性病学杂志, 2017, 43(1): 58-61.
[24] 袁柳凤, 尹跃平, 戴秀芹, 等. 南京地区淋球菌分离株对阿奇霉素的敏感性研究[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2010, 26(2): 110-111.
[25] 钟娜, 郑文爱, 王芳干, 等. 2006—2011年海南地区淋球菌耐药性监测分析[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2013, 27(1): 56-57.
[26] 朱邦勇, 李伟, 陈绍椿, 等. 广西地区淋病奈瑟菌对头孢菌素的耐药性及多抗原测序分型[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2017, 31(8): 865-867.
[27] 潘坤, 魏磊, 胡素娟. 济宁地区淋球菌临床分离株对抗生素的耐药性检测[J]. 中国病原生物学杂志, 2008, 3(11): 附页3, 804.
[28] 李治清, 刘宏星, 谢江玲. 武鸣县182例淋球菌药敏检测结果分析[J]. 应用预防医学, 2016, 22(2): 155-156.
[29] 黄健, 黄美容, 黄洋, 等. 性病患者中淋球菌感染的流行病学调查及耐药性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(17): 2554-2555.
[30] 郭青良, 闫圣男, 时颍涛, 等. 我院男科门诊淋球菌药物敏感性及耐药分析[J]. 中国执业药师, 2017, 14(8): 18-20.
[31] 朱邦勇, 赵秀梅, 尹跃平, 等. 2000—2005年南宁地区淋球菌对抗菌药物耐药性监测[J]. 中国皮肤科杂志, 2007, 40(5): 308-309.
[32] 苏晓红, 张传福, 张津萍. 大观霉素治疗淋病失败三例原因分析[J]. 中国皮肤科杂志, 2003, 36(5): 285.
[33] 陈福亭, 郑熠, 石萍, 等. 2008—2016年武汉市性传播疾病流行状况及趋势分析[J]. 实用预防医学, 2018, 25(7): 805-809.
[34] 王哲. 北京市平谷区医院581例性传播疾病病例分析[J]. 实用皮肤病学杂志, 2016, 9(3): 186-188.